



# Séminaire mycotoxines : les grains en bonne place

Le cinquième séminaire scientifique « Journées mycotoxines », en juin dernier, a présenté les avancées de la recherche côté détection, évaluation de la toxicité, compréhension des mécanismes et gestion des risques.

SABINE GALINDO\* ET DIDIER MONTET\*\*

**L'**UMR Qualisud (présentée Encadré 1) a organisé les 5 et 6 juin 2014 la cinquième édition du séminaire scientifique « Journées mycotoxines » à Polytech Montpellier.

Parmi les filières concernées, on trouvait celle du grain et sa qualité sanitaire, directement ou non. Évocation.

## Pour situer les mycotoxines Rappel de leur définition

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques synthétisés par des moisissures. Elles contaminent de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, grains, fourrages ainsi que les aliments dérivés de ces matières premières et destinés à l'alimentation humaine et animale. Certaines peuvent, par transfert, contaminer certains produits d'origine animale (produits laitiers notamment).

La contamination peut intervenir dès le champ lorsque les moisissures toxigènes, saprophytes ou phytopathogènes, se déve-



Photo : M. Délos

loppent sur les plantes (cas des *Fusarium* sp. et de *Claviceps purpurea* notamment). Elle peut également survenir après la récolte et au cours du stockage (*Penicillium*, *Aspergillum*...).

## L'importance des problèmes qu'elles posent

Ces toxines posent un problème récurrent de santé publique et induisent des pertes

économiques importantes. D'après la FAO, 25 % des cultures vivrières de la planète sont contaminées par des moisissures productrices de mycotoxines. Les pertes dues

< Symptôme de fusariose à *Fusarium roseum* sur blé dur. Les champignons du genre *Fusarium* produisent des mycotoxines dont des trichothécènes. La plus connue, le DON, produite par plusieurs moisissures du genre *Fusarium*, a été évoquée lors de ce séminaire.

## 1 – QualiSud : présentation

L'UMR QualiSud est une unité mixte de recherche regroupant les universités Montpellier 1 et Montpellier 2, le Cirad (Centre international de recherche agronomie et développement) et SupAgro Montpellier, organismes de recherche publique. Cette UMR avait organisé la 1<sup>re</sup> édition de ce séminaire fin 2009 à Montpellier.

Les séminaires suivants ont eu lieu à Toulouse en janvier 2011, à Bordeaux en janvier 2012 et à Brest en février 2013. En 2014, QualiSud a de nouveau organisé l'opération. C'était à l'amphithéâtre Serge Peytavin, de Polytech Montpellier (campus de l'université Montpellier 2). La 6<sup>e</sup> édition est prévue à Toulouse.

## RÉSUMÉ

♦ **CONTEXTE** - La 5<sup>e</sup> édition, organisée en juin 2014 à Montpellier par l'UMR Qualisud, du séminaire scientifique annuel mycotoxines, a permis de faire le point sur la problématique de ces métabolites et les recherches en cours. Parmi les secteurs évoqués, figure la filière grain dont les mycotoxines posent problème à la qualité sanitaire.

♦ **FILIÈRE GRAIN** - Cinq communications concernaient directement la filière grain :  
– en matière de détection, les possibilités offertes par les aptamères (définis dans l'article) dès aujourd'hui sur OTA, aflatoxines

M1 et B1, fumonisines B1 et zéaralénone ;  
– toujours en détection, une nouvelle méthode de dosage simultané de 23 mycotoxines ;  
– à propos de toxicité, une évaluation de celle du DON (confirmée) et de ses métabolites obtenus après décontamination biologique (toxicité efficacement diminuée) ;  
– concernant la gestion, le travail sur l'ergot dit du seigle et ses ergotoxines (alcaloïdes), ceci sur seigle mais aussi blé et autres céréales ;  
– l'intérêt de l'approche métabolomique pour comprendre la régulation de la biosynthèse des trichothécènes par *Fusarium*.

♦ **BIOAÉROSOL** - Une communication du CSTB alertait sur les bioaérosols contenant des mycotoxines et les risques sanitaires liés à leur inhalation. Le CSTB travaille sur les locaux d'habitation, industriels, etc., mais les résultats intéressent tout professionnel travaillant dans les lieux de stockage et/ou manipulation du grain.

♦ **MOTS-CLÉS** - Qualité sanitaire des grains, mycotoxines, détection, aptamères, OTA ochratoxine A, aflatoxines, biosynthèse, toxicité, DON déoxynivalénol, alcaloïdes, ergot, bioaérosol, UMR Qualisud, CSTB (Centre scientifique et technique du bâtiment).



## 2 - Ce séminaire n'a pas moulu que du grain

Ces journées n'ont pas concerné que les grains mais étaient « multimycotoxines/multifilières ». Ainsi, outre les thèmes cités dans le corps de l'article, on y a évoqué :

– **le cacao** (photo) avec l'ochratoxine A (OTA) qu'il peut contenir ; selon une communication Université d'Abidjan/UMR Qualisud : « *différents paramètres du traitement post-récolte (état sanitaire des cabosses, délai d'écabossage, durée de fermentation) ont un effet non négligeable sur le niveau de contamination du cacao en OTA* ».

– **Le raisin** (photo) avec les moyens de lutte biologique mis en œuvre au vignoble (élicitation et antagonisme) par l'UMR Qualisud et l'IFV<sup>(1)</sup> pour limiter la contamination en OTA dans les jus et vins. D'autres tests d'antagonisme sur *Aspergillus flavus* (producteur

d'aflatoxines) ont aussi été présentés par le LGC de l'INP<sup>(2)</sup> de Toulouse.

– **la pomme** au travers de la biosynthèse de la patuline par *Penicillium expansum*, responsable de la pourriture molle de ce fruit (communication de l'UMR Toxalim).

– **les fromages** avec deux exposés du Lubem<sup>(3)</sup> sur *Penicillium roqueforti* producteur notamment d'acide mycophénolique et de roquefortine C ; bilan : d'abord une production très variable selon la souche de *P. roqueforti* présente, ensuite la faible toxicité de ces métabolites, enfin des découvertes sur leurs voies de biosynthèse ;

– **les fourrages** avec une communication de l'UMR Toxalim/École vétérinaire de Toulouse sur les champignons du genre



▲ Cabosse de cacao en mauvais état sanitaire.  
▲ Raisin avec moisissures productrices d'OTA.

*Stachybotrys* pouvant produire des trichothécènes macrocycliques à l'origine d'intoxications d'animaux, chevaux surtout. À noter : l'intoxication peut venir de l'ingestion du fourrage mais il y a aussi l'inhalation de « bioaérosols ». On en a trouvé qui contenaient *S. chartarum* dans des exploitations françaises. D'où risque d'exposition pour les chevaux, certes... Mais aussi pour les agriculteurs et les palefreniers !

(1) Institut français de la vigne et du vin.

(2) Lab. de génie chimique - Inst. nat. polytechnique.

(3) Laboratoire universitaire de biodiversité et d'écologie microbienne, Plouzané (Finistère).

à ces contaminations sont estimées, par exemple, à 5 milliards de dollars par an, uniquement pour les États-Unis et le Canada (FAO, 2003).

Parmi les plus de 300 mycotoxines différentes qui ont été isolées et caractérisées, une trentaine d'entre elles possèdent des propriétés toxiques caractérisées et présentant un réel risque pour la santé humaine et animale (Anses, 2009).

Certaines des plus dangereuses et préoccupantes notamment pour leurs effets cancérigènes et tératogènes sont soumises à la réglementation européenne dans certaines denrées.

C'est le cas notamment de plusieurs aflatoxines, l'OTA (ochratoxine A), certains trichothécènes (DON, etc.), la zéaralénone, la patuline, les fumonisines.

## Le séminaire en général Participants et filières

Le programme des journées était très intéressant et varié. Les 90 participants, chercheurs, étudiants et industriels, en majorité des Français, mais aussi des internationaux dont une conférencière irlandaise de Queen University of Belfast, ont écouté quinze conférences. Celles-ci ont permis d'aborder les problématiques mycotoxines des filières céréales, fourrage, raisin, pommes, cacao et même fromage.

## Champignons et toxines

Elles ont permis d'étudier les spécificités d'occurrence et de toxigenèse de contaminants fongiques des genres *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Stachybotrys*, et les mycotoxines associées.

Celles-ci, plus ou moins toxiques, vont des trichothécènes produits par des champignons des genres *Fusarium* (mais aussi *Stachybotrys*, voir Encadré 2), aflatoxines et ochratoxines (produites notamment par des moisissures des genres *Aspergillus*, *Penicillium*), ergotamine et autres alcaloïdes d'ergot (dû à *Claviceps purpurea*), à l'acide mycophénolique et la roquefortine C (produits par *P. roqueforti*, voir encore Encadré 2) en passant par la patuline (voir toujours encadré 2).

## Quatre orientations des recherches

Il existe à l'heure actuelle quatre orientations stratégiques des recherches dans le domaine des mycotoxines. Elles ont représenté les quatre thèmes du séminaire :

– les méthodes de détection rapide ;

# AGRENE

vous propose

- **Un ensemble d'analyses microbiologiques** applicables sur sol, végétaux, amendements et produits : *dénombrement, identification et caractérisation de micro-organismes.*
- **Du diagnostic phytosanitaire** sur sols et cultures : *Agents pathogènes des cultures ; fatigue de sol.*
- **De l'expérimentation**
- **De la R & D** dans les domaines de la microbiologie du sol et des moyens non chimiques de protection des plantes.
- **Le montage et la rédaction de dossiers réglementaires** (ADE, AMM) dans le domaine des produits bio-fertilisants, bio-stimulants et bio-protectants.

Agriculture, Environnement : Études, diagnostic et conseil  
47 rue Constant Pierron – 21000 DIJON  
Tél. 33 (0)3.80.65.09.52  
[contact@agrene.fr](mailto:contact@agrene.fr)  
[www.agrene.fr](http://www.agrene.fr)





– l'étude des voies de biosynthèse ;  
– l'évaluation toxicologique ;  
– la mise au point de méthodes de prévention et de maîtrise en pré et post-récolte. Le tout appliqué aux différents contaminants et filières. Plusieurs communications ont traité directement de qualité sanitaire des grains.

## Sujets touchant directement la qualité des grains

### Détection : découvrir les aptamères

Parmi les avancées notables signalées figure l'évolution des techniques de détection. Ainsi, Lise Barthelmebs *et al.*, du laboratoire Images de l'UPVD (université de Perpignan), ont évoqué les aptamères.

De quoi s'agit-il ? Ce sont, citons le résumé de la communication, des « molécules d'ADN ou ARN simple brin sélectionnées par le procédé *in vitro* Selex (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment).

De façon similaire aux anticorps, les aptamères présentent une forte affinité pour leur cible, mais ils possèdent de nombreux avantages [...] : ils sont peu coûteux et résistants aux variations de température et de pH, ils peuvent être facilement couplés à différents groupements chimiques et ne sont pas produits par voie animale ».

Bref, ils sont annoncés moins chers et plus faciles à maîtriser que la chromatographie en phase liquide, et plus précis, reproductibles et sensibles (seuils de détection plus bas) que les tests Elisa et bandelettes.

L'auteur ajoute : « À ce jour, des aptamères ont été caractérisés pour l'ochratoxine A (OTA), les aflatoxines M1 et B1, la fumonisine B1 et la zéaralenone. » En revanche pour les autres mycotoxines telles que le DON, les toxines T-2 et HT-2 et la patuline, aucun aptamère n'a encore été sélectionné ».

### Détection : vingt-trois toxines à la fois

Autre communication sur la détection, celle de Céline Cézard de la société Phytocontrol. Elle a annoncé que son laboratoire avait « développé en interne une méthode unique permettant de doser simultanément une vingtaine de mycotoxines en une seule injection ». Ceci notamment dans les grains. Il y a 23 toxines concernées (détails p. 32 à 36).

### Biosynthèse et toxicité : du nouveau sur le DON

La troisième communication évoquait à la fois la biosynthèse et la toxicité d'une toxine bien connue, le DON ou déoxynivalénol, dit aussi vomitoxine. Pour mémoire, c'est une fusariotoxine (= toxine produite



À gauche, symptôme d'ergot sur seigle : l'ergot brunâtre qui pointe à gauche de l'épi, un sclérote de *Claviceps purpurea*, contient des alcaloïdes. Ces derniers ont été évoqués dans une communication.

À droite, fusariose sur épi de maïs à dominance *Fusarium proliferatum* (déterminé après analyse), producteur de fumonisines. Ces mycotoxines font partie de celles réglementées et analysées.

par des champignons du genre *Fusarium*) qui touche particulièrement les grains de céréales à paille mais également de maïs, elle fait partie des trichothécènes de type B (TCTB) et elle est réglementée : il y a des seuils à ne pas dépasser sur céréales à paille, maïs et produits dérivés.

Sabria Mimoun, post-doctorante à l'Inra UMR Toxalim à Toulouse, a travaillé sur la toxicité du DON et des métabolites qu'on obtient si on met en œuvre un procédé de décontamination biologique, notamment la déépoxydation et la glucosylation (conjugaison avec du glucose).

Sans entrer dans les détails méthodologiques et définitions (la communication cite l'« approche transcriptomique » sur « explants jéjunaux de porcelets », l'« analyse en microarray », et la qPCR alias PCR quantitative, etc.), retenons que les résultats obtenus :

– « confirment la toxicité intestinale du DON » ;  
– démontrent que « les réactions de déépoxydation, glucosylation ou épimérisation diminuent efficacement la toxicité de cette mycotoxine ». C'est intéressant.

« confirment la toxicité intestinale du DON » ;

– démontrent que « les réactions de déépoxydation, glucosylation ou épimérisation diminuent efficacement la toxicité de cette mycotoxine ». C'est intéressant.

### Fusariose, DON et métabolomique

La communication de Florence Forget de l'UMR Mycsa de l'Inra de Bordeaux a démontré le fort intérêt d'une approche métabolomique par couplage LC-MS et H-RMN et suivi de près de 60 métabolites primaires et secondaires pour comprendre la régulation de la production des mycotoxines.

Le travail présenté a porté sur les trichothécènes de type B (TCTB), dont le DON est le représentant majeur, et qui sont produits par

*Fusarium graminearum*, un des principaux agents de la fusariose de l'épi.

Ces travaux ont permis de proposer pour la première fois une carte métabolomique de *F. graminearum* illustrant l'imbrication très étroite du métabolisme secondaire de production de mycotoxines au sein du métabolisme primaire.

### Prévention et maîtrise : cas des alcaloïdes d'ergot

Enfin la communication de Béatrice Orlando *et al.*, d'Arvalis-Institut du végétal<sup>(1)</sup>, évoque les alcaloïdes produits par *Claviceps purpurea* agent de l'ergot du seigle, maladie qui touche aussi le blé, le triticale, etc. Elle a présenté les travaux de l'institut technique à ce sujet depuis quatre ans. En précisant que ces derniers sont « pour la plupart encore en cours », elle a signalé notamment :

– concernant l'occurrence de l'ergot et de ses alcaloïdes en France, le pathogène est « significativement présent sur le territoire, mais les intensités d'attaques sont majoritairement faibles, et variables selon la culture » ;  
– par ailleurs, « La relation sclérotés/alcaloïdes s'accompagne d'incertitudes » mais « les échantillons peu contaminés en ergot sont également les moins contaminés en alcaloïdes » ;

– enfin, une étude « sur la récolte 2012 a permis d'identifier les itinéraires techniques influant sur les niveaux de contamination »

NDLR : Parmi eux, il y a l'impact des adventices graminées, vulpin et ray-grass notamment, et de leur gestion : désherbage réussi ou non, et réalisé plus ou moins précocement. Voir à ce sujet l'article p. 26 à 31, et qui cite notamment B. Orlando.

(1) NDLR (note de la rédaction de Phytoma) : Arvalis est cosignataire du Guide de gestion des mycotoxines dont la 2<sup>e</sup> édition est sortie cette année (voir bibliographie).

On peut trouver des bio-aérosols dans les lieux de stockage des grains.



## Indirectement... qualité de l'air

### Exposition aux mycotoxines : penser aussi aux bioaérosols

Une communication intéressante pour ceux qui s'occupent de stockage des grains a été présentée par le CSTB...

Pourtant, l'organisme public qu'est ce Centre scientifique et technique du bâtiment travaille sur des problématiques de locaux d'habitation ou encore commerciaux ou industriels... *A priori*, on ne voit pas le rapport avec la qualité des denrées alimentaires en général et celle du grain en particulier... Et bien, on devrait. En effet, l'air de tout bâtiment fermé, quel qu'il soit, risque d'être chargé en « bioaérosols » contenant des mycotoxines en cas de mauvaise aération et d'humidité permettant le développement d'espèces fongiques. C'est ce qu'ont montré les auteurs de ces communications.

### Notamment au silo

Certes, ils ont parlé d'« espaces de vie »... Mais les silos et autres bâtiments de stockage des grains sont concernés aussi !

Les personnes qui y travaillent, si elles y passent du temps, sont exposées à ces bioaérosols. Pense-t-on par exemple à se protéger lors des opérations de nettoyage, qui bien souvent remuent la poussière de moisissures ? À méditer...

## Conclusion

### Trois évolutions

En tout cas, et compte tenu des enjeux, ces journées ont permis aux participants d'échanger sur cette thématique « Myco-

toxines » et d'évaluer les évolutions marquantes en la matière. On peut en citer trois.

– D'abord l'amélioration des techniques analytiques est une bonne nouvelle.

– En revanche, on peut s'inquiéter de l'arrivée (ou l'augmentation des cas de présence) en pays jusqu'ici tempérés de mycotoxines rencontrées jusqu'ici surtout en régions chaudes : OTA et aflatoxines. C'est le cas des aflatoxines sur maïs en Italie avec du fromage dépassant les normes européennes, suite possible (enquête en cours) de la consommation par les vaches laitières de maïs contaminés. L'information a été officialisée quelques jours après le colloque de juin : les autorités italiennes ont saisi des « formes » (roues) de parmesan et procédé

à l'arrestation de personnes ayant commercialisé des fromages non conformes.

– La troisième évolution est celle des recherches de moyens biologiques de protection. Il s'agit notamment de micro-organismes bénéfiques, antagonistes de ceux produisant des toxines. Aura-t-on des résultats au 6<sup>e</sup> séminaire ?

On détecte des  
mycotoxines  
de régions  
chaudes  
dans des  
pays jusqu'ici  
tempérés.

### Vers un projet ANR

Pour préparer l'avenir, ces journées sont aussi un moyen de coordonner les recherches des participants afin de faire émerger de nouveaux projets et répondre aux appels à projets nationaux et européens. Ainsi, l'après-midi du 6 juin a été consacré à la réflexion sur le montage de projets, notamment d'un projet ANR sur lequel plusieurs équipes et industriels ont fait part de leur intérêt.

## POUR EN SAVOIR PLUS

**AUTEURS** : \*S. GALINDO, professeure Polytech/UM2, directrice adjointe de l'UMR Qualisud et responsable de l'action micropolluant.

\*\*D. MONTET, chercheur-HDR Cirad, animateur de l'équipe Maîtrise des contaminants de la chaîne alimentaire.

**CONTACTS** : galindo@univ-montp2.fr, montet@cirad.fr

**LIEN UTILE** : Pour le manuel FAO : <http://www.fao.org/DOCREP/005/Y1390F/y1390f00.htm#Contents>  
Pour le guide interprofessionnel mycotoxines 2014 (pdf en accès libre et gratuit) : [http://archives.yvoir.fr/userfiles/file/pdf/2010/04/guide\\_mycotoxines\\_final\\_BD.pdf](http://archives.yvoir.fr/userfiles/file/pdf/2010/04/guide_mycotoxines_final_BD.pdf)

**BIBLIOGRAPHIE** : - Anses 2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaines et animales. Rapport final Afssa 2009.

- FAO 2003. Manuel sur l'application du système d'analyse de risques - points critiques pour leur maîtrise (HACCP) pour la prévention et le contrôle des mycotoxines (lien ci-dessus).

- Intercéréales 2014. Guide interprofessionnel de gestion des mycotoxines dans la filière céréalière. Édition 2014.

# Abonnez-vous à PHYTOMA

La santé des végétaux

## PROFITEZ DE NOTRE OFFRE SPÉCIALE D'ABONNEMENT



### OUI, je m'abonne à PHYTOMA\* :

☐ 1 an, 10 numéros au prix de 89€ au lieu de 130€

Je recevrai mon abonnement à cette adresse : ☐ M. ☐ M<sup>me</sup>. ☐ M<sup>lle</sup>.

Nom ..... Prénom .....

Société ..... Adresse .....


Code postal ..... Commune .....

Tél. .... Port. ....

E-mail .....

Je vous règle par :

☐ Chèque bancaire joint à l'ordre de PHYTOMA

☐ Carte bancaire  dont voici le numéro .....

Date d'expiration ..... Cryptogramme ..... (3 derniers chiffres au dos de votre carte sur la bande de signature)

☐ Virement ♦ HSBC - 75010 PARIS

Code banque	Guichet	N° compte	Clé
30056	00024	00242011084	24

☐ Je réglerai à réception de facture.

Signature

\*Offre réservée aux professionnels et valable en France métropolitaine jusqu'au 31.12.2014